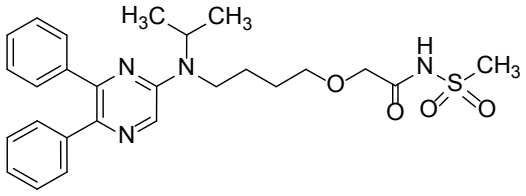
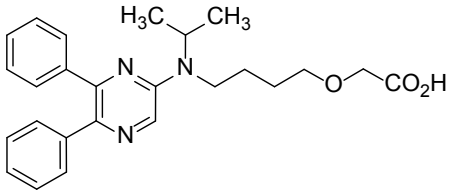
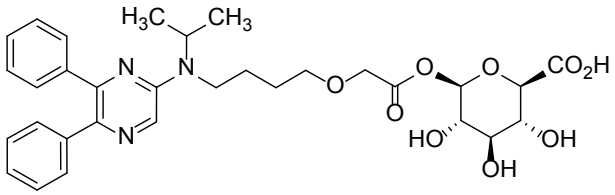
目次

2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 6
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 6
2.4.2.2 副次的薬理試験 9
2.4.2.3 安全性薬理試験 10
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 11
2.4.2.5 薬理総括 11
2.4.3 薬物動態試験 13
2.4.3.1 分析法 13
2.4.3.2 吸収 13
2.4.3.3 分布 14
2.4.3.4 代謝 15
2.4.3.5 排泄 18
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 19
2.4.3.7 薬物動態総括 19
2.4.4 毒性試験 20
2.4.4.1 単回投与毒性試験 20
2.4.4.2 反復投与毒性試験 20
2.4.4.3 遺伝毒性試験 21
2.4.4.4 がん原性試験 21
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 22
2.4.4.6 局所刺激性試験 23
2.4.4.7 その他の毒性試験 23
2.4.4.8 毒性総括 24
2.4.5 総括及び結論 27
2.4.6 参考文献一覧 28

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
APD	action potential duration：活動電位持続時間 APD_{30}は30%再分極時活動電位持続時間、APD_{90}は90%再分極時活動電位持続時間を表す。
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積 AUC_{0-t}は時間0からt（hr）までのAUC、$AUC_{0-\infty}$は時間0から無限大までのAUCを表す。
BA	bioavailability：生物学的利用率
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性タンパク
BSEP	bile salt export pump：胆汁酸トランスポーター
cAMP	cyclic adenosine 5’-monophosphate：環状アデノシン一リン酸
CES	carboxylesterase：カルボキシルエステラーゼ
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
EC_{50}	50% effective concentration：50%効果濃度
EP 受容体	prostaglandin E_2 receptor：プロスタグランジン E_2 受容体
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HPLC	high performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	50% inhibition concentration：50%阻害濃度
IP 受容体	prostacyclin receptor：プロスタサイクリン受容体
Ki	inhibition constant：阻害定数
LC-MS/MS	liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry（spectrometer）：高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（分析計）
LSC	liquid scintillation counting（counter）：液体シンチレーション計測法（カウンター）
MATE	multidrug and toxin extrusion：多剤排出輸送体
MRP	multidrug resistance-associated protein：多剤耐性関連タンパク
NOAEL	no-observed adverse effect level：無毒性量
OAT	organic anion transporter：有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
P_{app}	apparent permeability coefficient：見かけの透過係数
PGI_2	prostacyclin, prostaglandin I_2：プロスタサイクリン
P-gp	P-glycoprotein：P 糖タンパク
RLG	radioluminography：ラジオルミノグラフィー
$t_{1/2}$	elimination half-life：消失半減期
t_{max}	time to maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
TSH	thyroid stimulating hormone：甲状腺刺激ホルモン
TP 受容体	thromboxane A_2 receptor：トロンボキサン A_2 受容体
TXA_2	thromboxane A_2：トロンボキサン A_2
UGT	uridine diphosphate glucuronosyltransferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素

申請品及び関連化合物の名称と構造式

セレキシパグ及び関連化合物	由来
［一般的名称］セレキシパグ ［化合物名］ 2-{4-[(5,6-Diphenylpyrazin-2-yl)(propan-2-yl)amino]butoxy}-*N*-(methanesulfonyl)acetamide ［分子式］$C_{26}H_{32}N_4O_4S$ ［分子量］496.62 ［化学構造式］ 	原薬
［略称］MRE-269 ［化合物名］{4-[(5,6-Diphenylpyrazin-2-yl)(propan-2-yl)amino]butoxy}acetic acid ［分子式］$C_{25}H_{29}N_3O_3$ ［分子量］419.52 ［化学構造式］ 	活性代謝物 分解物
［略称］MRE-6001 ［化合物名］ 1-*O*-({4-[(5,6-Diphenylpyrazin-2-yl)(propan-2-yl)amino]butoxy}acetyl)-*β*-*D*-glucopyranuronic acid ［分子式］$C_{31}H_{37}N_3O_9$ ［分子量］595.64 ［化学構造式］ 	代謝物

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

肺動脈性肺高血圧症では、肺動脈内腔の狭窄などにより肺血管抵抗が増大し、肺動脈圧が上昇する。そのため、右室から肺への血液拍出能が制限され、最終的には右心不全により死に至る進行性の疾患である[1)]。肺動脈血管には収縮因子及び弛緩因子による複数の調節機構が存在し、プロスタノイドが関係するシグナル経路として、例えばトロンボキサン A_2（TXA_2）は血管を収縮させ、プロスタサイクリン（PGI_2）は血管を弛緩させる[2)]。肺動脈性肺高血圧症では肺高血圧を低下させるために血管拡張作用を有する薬が使われており、PGI_2 を介する経路もその一つである。現在では、PGI_2（医薬品の一般的名称はエポプロステノールナトリウム）及びプロスタノイド構造の類似化合物であるプロスタサイクリン受容体（IP 受容体）作動薬が肺動脈性肺高血圧症治療薬として使用されている[1)]。

日本新薬株式会社では、新たにヒト IP 受容体に選択性が高く、非プロスタノイド構造の作動薬としてセレキシパグを創製した[3)]。ヒトに経口投与した場合、セレキシパグは吸収後に肝臓で加水分解を受けて脱メチルスルホニルアミド体（MRE-269）を生成し、この代謝物はセレキシパグよりも高い効力を有する IP 受容体作動薬として作用する。また、MRE-269 はセレキシパグの主代謝物であり、消失半減期はセレキシパグよりも長い。このような特徴から、セレキシパグを 1 日 2 回、反復経口投与することにより肺動脈性肺高血圧症への治療効果が期待でき、新有効成分含有医薬品の医薬品製造販売承認申請を行うに至った。

医薬品製造販売承認申請書添付資料の作成にあたり、日本新薬株式会社及び Actelion Pharmaceuticals 社（スイス）はセレキシパグの薬理、薬物動態及び毒性に関する非臨床試験を実施又は委託し、その試験成績を収集した。さらに、活性代謝物である MRE-269 についても *in vitro* 及び *in vivo* 試験で必要な試験成績を収集した。

（1） 薬理試験

効力を裏付ける試験として、セレキシパグ及び活性代謝物 MRE-269 の IP 受容体への結合活性並びにその細胞内情報伝達系への影響を検討した。また、IP 受容体を介する作用として、MRE-269 のラット摘出肺葉内動脈標本に対する弛緩作用、ヒト初代培養肺動脈平滑筋細胞を用いた細胞増殖抑制作用並びに多血小板血漿を用いた血小板凝集抑制作用を検討した。さらに、ラット肺高血圧モデルを用いて右心肥大等に対するセレキシパグの影響を検討した。また、高血圧自然発症ラットを用いて本薬の体血圧に対する影響を検討した。

副次的薬理試験として、種々の酵素活性、神経伝達物質受容体、その他の受容体、イオンチャネル及びトランスポーター等の結合活性に対するセレキシパグ及び MRE-269 の影響を検討した。

安全性薬理については、中枢神経系、心血管系、呼吸系及びその他の器官系に対する影響を検討する試験を、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用下で実施し、評価資料とした。

なお、薬力学的薬物相互作用に該当する試験はなかった。

（2） 薬物動態試験

薬物動態試験については、セレキシパグの吸収、分布、代謝、排泄及び薬物相互作用をラット、イヌ及びカニクイザルで評価し、一部の試験はマウス、ウサギ、ミニブタ及びヒト試料を使用して評価した。投与経路は臨床投与経路と同じ経口とし、一部の試験は静脈内投与でも実施した。試験では ^{14}C 標識体及び非標識のセレキシパグ並びにセレキシパグの活性代謝物である MRE-269 の ^{14}C 標識体及び非標識体を使用した。

（3） 毒性試験

セレキシパグの毒性評価のために、単回投与毒性試験（マウス、ラット、イヌ）、反復投与毒性試験（マウス：13 週間まで、ラット：26 週間まで、イヌ 39 週間まで）、遺伝毒性試験（細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験、マウスを用いた小核試験、ラットを用いたコメットアッセイ）、がん原性試験（マウス及びラット：24 ヵ月間）、生殖発生毒性試験（ラット受胎能・初期胚発生試験、ラット及びウサギ胚・胎児発生試験、ラット出生前後の発生・母体機能試験、幼若イヌを用いた反復投与毒性試験）、局所刺激性試験（ウサギ）、毒性発現機序に関する試験（発がん性）及び光毒性試験（*in vitro* 光毒性試験）を実施した。また、代謝物及び不純物に関する試験も実施した。

一般毒性試験での使用動物種は、背景データが豊富なことからマウス、ラット及びイヌを選択し、これらの動物種では活性代謝物である MRE-269 を含め、十分な曝露が得られた。また、同様の理由で生殖発生毒性試験のげっ歯類にはラットを、非げっ歯類にはウサギを、がん原性試験ではマウス及びラットを、幼若動物を用いた毒性試験ではイヌをそれぞれ選択した。

試験は各種予備試験及び不純物に関する試験を除き、すべて GLP に準拠して行った。また、主要な試験については、セレキシパグ及び活性代謝物である MRE-269 について血漿中濃度を測定し、全身曝露を評価した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 IP受容体に対する作用（試験番号PH-304-004，N304-041105，N304-100618，B-11.413，B-14.046、資料番号 4.2.1.1-1，4.2.1.1-2，4.2.1.1-3，4.2.1.1-4，4.2.1.1-5、評価資料）

セレキシパグ及び MRE-269 の IP 受容体に対する作用を表 2.4.2.1.1-1 に示す。

ラット組換え型 IP 受容体を安定発現したチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞から調製した膜標品への[^{3}H]iloprost 結合をセレキシパグ及び MRE-269 は濃度依存的に抑制し、その阻害定数（Ki）はそれぞれ 4098.4 ± 566.7 及び 394.3 ± 13.0 nmol/L であった。ヒト組換え型 IP 受容体を用いた同様の実験系において、セレキシパグ及び MRE-269 の Ki はそれぞれ 263.0 ± 24.3 及び 19.8 ± 0.6 nmol/L であった。このように、セレキシパグと MRE-269 はラットよりヒト IP 受容体に 10 倍以上高い結合親和性を示した。一方、プロスタノイド構造の IP 受容体作動薬であるベラプロストナトリウムは、ラット及びヒト IP 受容体の間に効力の違いは認められなかった。ヒトとげっ歯類とでは、IP 受容体のアミノ酸配列の相同性が高くないため [4,5]、このことが非プロスタノイドの化合物で種差を生じる要因となった可能性が考えられた。

ヒト組換え型 IP 受容体の安定発現 CHO 細胞を用いて IP 受容体を介した細胞内情報伝達系として、環状アデノシン一リン酸（cAMP）生成量に対する影響を検討した。セレキシパグ及び MRE-269 はいずれも濃度依存的に細胞内の cAMP 生成量を増加させ、その最大反応はベラプロストナトリウムと同程度であった。その 50%効果濃度（EC_{50}）は、セレキシパグが 76.7（95%信頼区間：63.7～89.7）nmol/L、MRE-269 が 4.98（95%信頼区間：3.69～6.26）nmol/L であった。また、ヒト初代培養肺動脈平滑筋細胞を用いたインピーダンス法で細胞形態の変化を検討したところ、セレキシパグ及び MRE-269 は細胞内のインピーダンスを低下させ、幾何平均値での EC_{50} はそれぞれ 157 ± 1.3 及び 4.3 ± 1.2 nmol/L であり、MRE-269 はセレキシパグより約 37 倍高い効力を示した。

表 2.4.2.1.1-1 IP受容体に対するセレキシパグ及びMRE-269 の作用

試験材料	試験項目	セレキシパグ	MRE-269	資料番号
ラット組換え型 IP 受容体発現 CHO 細胞	結合親和性 [a]	4098.4 ± 566.7（nmol/L）	394.3 ± 13.0（nmol/L）	4.2.1.1-1
ヒト組換え型 IP 受容体発現 CHO 細胞	結合親和性 [a]	263.0 ± 24.3（nmol/L）	19.8 ± 0.6（nmol/L）	4.2.1.1-2
ヒト組換え型 IP 受容体発現 CHO 細胞	cAMP 生成量増加 [b]	76.7（63.7～89.7）（nmol/L）	4.98（3.69～6.26）（nmol/L）	4.2.1.1-3
ヒト組換え型 IP 受容体発現 CHO 細胞	cAMP 生成量増加 [c]	106 ± 26（%）	110 ± 14（%）	4.2.1.1-4
	β-アレスチンの動員 [c]	24 ± 6（%）	40 ± 6（%）	
	IP 受容体の細胞内移行 [d]	観察されず	観察されず	
ヒト初代培養肺動脈平滑筋細胞	インピーダンスの低下 [e]	157 ± 1.3（nmol/L）	4.3 ± 1.2（nmol/L）	4.2.1.1-5

a：Ki（平均値±標準偏差、n=3）、b：EC_{50} とその 95%信頼区間（n=3）、c：イロプロストの最大反応に対する百分率の平均値±標準偏差（cAMP：n=3、β-アレスチン：n=6）、d：処置濃度（100、1000 及び 10000 nmol/L）、e：EC_{50}（幾何平均値±標準偏差、n=3）

ヒト組換え型 IP 受容体の安定発現 CHO 細胞をプロスタノイド構造の IP 受容体作動薬で刺激することにより、β-アレスチンの IP 受容体への動員や IP 受容体の細胞内移行が認められた。それに対し、セレキシパグ及び MRE-269 は cAMP 生成量については同程度の効果を示すものの、脱感作につながる β-アレスチンの動員と IP 受容体の細胞内移行を誘導する作用を起こしにくい IP 受容体作動薬と考えられた。

2.4.2.1.2 プロスタノイド受容体に対する作用（試験番号PH-304-003，B-13.096、資料番号 4.2.1.1-6，4.2.1.1-7、評価資料）

ヒトプロスタノイド受容体サブタイプであるプロスタグランジン D_2 受容体、プロスタグランジン E_2 受容体（EP 受容体、EP_1～EP_4）、プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 受容体及びトロンボキサン A_2 受容体（TP 受容体）への結合活性に対し、いずれも 1 μmol/L のセレキシパグ及び MRE-269 による影響は認められなかった。

ヒト、ラット及びイヌの組換え型 IP、EP_2 及び EP_4 受容体の安定発現ヒト胎児由来腎臓 293 細胞を用いて、cAMP 生成量に対する影響を検討した。セレキシパグ及び MRE-269 は IP 受容体を介して cAMP の生成量を増加させた。IP 受容体に対する効力はヒトが最も高く、次いでラット及びイヌの順であった。セレキシパグは EP_2 及び EP_4 受容体発現細胞では、50 μmol/L でも cAMP 生成量への影響は認められなかった。MRE-269 は EP_2 受容体発現細胞において、10 μmol/L 前後の濃度で cAMP 生成量を増加させた。EP_4 受容体発現細胞ではイヌ EP_4 受容体においてのみ cAMP 生成量を増加させ、その EC_{50} は 660 ± 1.3 nmol/L であった。この濃度は MRE-269 のイヌ IP 受容体に対する EC_{50}（500 ± 1.1 nmol/L）と同程度であった。そのため、イヌに高用量のセレキシパグを投与した場合では、MRE-269 が IP 受容体に加えて EP_4 受容体を介した作用も発現する可能性が考えられた。

2.4.2.1.3 摘出平滑筋標本に対する作用（試験番号N304-110209, B-09.363、資料番号 4.2.1.1-8, 4.2.1.1-14、評価資料；試験番号P-09-057, P-09-056, P-09-058, P-09-059, P-09-060、資料番号 4.2.1.1-9，4.2.1.1-10，4.2.1.1-11，4.2.1.1-12，4.2.1.1-13、参考資料）

ラット摘出肺葉内動脈の内皮除去標本を用いた検討において、プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ による収縮をセレキシパグ及び MRE-269 はいずれも濃度依存的にほぼ完全に抑制した。その IC_{50} はそれぞれ 11（95%信頼区間：10～12）及び 2.7（95%信頼区間：2.4～3.1）μmol/L であり、MRE-269 の弛緩作用はセレキシパグより約 4 倍高い効力を示した。また、内皮を除去した肺葉外動脈標本及び肺葉内動脈標本での MRE-269 の最大弛緩は、それぞれ 96.3%（95%信頼区間：91.2%～101.3%）及び 100.1%（95%信頼区間：89.9%～111.4%）であり、両者の間に違いは認められなかった。内皮を残した標本でも MRE-269 は同様に弛緩し、その作用は内皮非依存性であると考えられた。

同様に、プロスタノイド構造のベラプロストナトリウム、イロプロスト、エポプロステノール及びトレプロスチニルで検討したところ、ラット摘出肺葉内動脈の内皮除去標本での最大弛緩は、それぞれ 30.5%（95%信頼区間：27.3%～33.6%）、74.1%（95%信頼区間：68.3%～78.0%）、15.0 ± 0.8%（弛緩作用が最も強い 1 μmol/L での弛緩率）及び 51.0%（95%信頼区間：39.9%～62.0%）であり、MRE-269 とは異なる作用態度を示した。

ラット摘出胃底部標本を用いた検討では、イロプロスト、ベラプロストナトリウム及びトレプロスチニルが EP_3 受容体を介した収縮反応を示したが、セレキシパグ及び MRE-269 にそのような作用は認められなかった。

プロスタノイド構造を有する IP 受容体作動薬の一部は EP 受容体にも作用することが報告されており [6,7]、IP 以外のプロスタノイド受容体を介した作用の混在が弛緩/収縮反応を複雑にしている要因の一つと推察された。一方、非プロスタノイド構造のセレキシパグ及び MRE-269 は IP 受容体に選択的に作用し、その弛緩作用は内皮非依存性であると考えられた。

2.4.2.1.4 細胞増殖能に対する作用（試験番号PH-304-001、資料番号 4.2.1.1-15、評価資料）

ヒト初代培養肺動脈平滑筋細胞を血小板由来成長因子で刺激したときの細胞増殖能を、MRE-269 は 10 nmol/L 以上で濃度依存的に抑制した。肺動脈性肺高血圧症患者から採取された肺動脈平滑筋細胞は、肺高血圧症でない人から採取された肺動脈平滑筋細胞よりも血小板由来成長因子で刺激したときの増殖能が高いことが報告されている [8]。肺高血圧の改善に寄与する機序としてプロスタサイクリンによる細胞増殖抑制作用も提唱されており [9]、セレキシパグにおいても細胞増殖抑制作用が薬効に一部寄与すると考えられる。

2.4.2.1.5 血小板凝集能に対する作用（試験番号N304-081110，N304-081104、資料番号 4.2.1.1-16，4.2.1.1-17、評価資料）

ラット及びヒトの全血に MRE-269 を添加した後で多血小板血漿を調製し、アデノシン二リン酸で凝集反応を惹起した。MRE-269 は、IC_{50} がラットで 8.3（95%信頼区間：6.0～11）μmol/L、ヒトで 69（95%信頼区間：57～82）nmol/L となる血小板凝集抑制作用を示した。

肺動脈性肺高血圧症では血小板での凝集能が活性化しており、血栓の出現は肺動脈を狭窄する一因であると考えられている [10]。また、抗凝血薬が肺動脈性肺高血圧症の治療に有効であることも報告されている [11]。プロスタサイクリンの血小板凝集抑制作用も肺高血圧の改善に寄与する機序として提唱されており [9]、血小板凝集抑制作用も薬効に一部寄与すると考えられる。

2.4.2.1.6 肺高血圧モデルラットに対する作用（試験番号N304-050207, PH-304-002, B-13.066、資料番号 4.2.1.1-18, 4.2.1.1-21, 4.2.1.1-22、評価資料；試験番号P-07-002, P-07-009、資料番号 4.2.1.1-19，4.2.1.1-20、参考資料）

肺動脈性肺高血圧症の動物モデルであるモノクロタリン誘発肺高血圧モデルでは、肺動脈が狭窄しており、最終的に右心不全を生じて死に至る [12]。このラットモデルにおいて、モノクロタリン 40 mg/kg を皮下投与し、引き続きセレキシパグ 1 mg/kg を 1 日 2 回、19 日間反復経口投与したところ、右心肥大の形成を抑制した。また、肺小動脈の肥厚を抑制し、モノクロタリン処置開始後の生存日数を延長した。TP 受容体作動薬である U46619 誘発肺高血圧モデルラットでは右心室収縮期圧が上昇し [13]、このモデルを用いた検討においてセレキシパグは 3 mg/kg の単回十二指腸内投与により上昇した収縮期の右心室圧を低下させた。なお、この投与量では体血圧及び心拍数への影響は認められなかった。

さらに、ラットモノクロタリン誘発肺高血圧モデルにおいて、テレメトリーシステムを用いて肺動脈圧の上昇を確認した後、10 mg/kg のセレキシパグを 1 日 2 回、5 日間反復経口投与した。セレキシパグ投与後に肺動脈圧は低下し、反復投与による作用の減弱は認められなかった。なお、投与後の肺動脈圧低下の最大変化量は、朝が 2 日目の-16 ± 2 mmHg であり、夕が 2 日目に-9 ± 3 mmHg、5 日目に-9 ± 4 mmHg であった。

2.4.2.1.7 体血圧に対する作用（試験番号B-13.067、資料番号 4.2.1.1-23、評価資料）

プロスタサイクリンは血管内皮細胞で生成する弛緩因子であり、IP 受容体も多くの血管平滑筋に存在する [14,15]。そこで、体循環系への影響として高血圧自然発症ラットの体血圧を測定した。

高血圧自然発症ラットの体血圧が高血圧状態にあることを確認した後、セレキシパグを 4 日ごとに 10、30、100 及び 300 mg/kg/day に増量して混餌投与したところ、投与量の増加に伴って体血圧は低下した。心拍数に対しては、セレキシパグ投与による影響は認められなかった。

プロスタノイド構造を有する IP 受容体作動薬であるトレプロスチニルを 30 μg/kg/hr で持続静脈内投与することによっても、高血圧自然発症ラットの体血圧は低下した。しかしながら、トレプロスチニルの投与を継続することによりこの体血圧低下作用は徐々に減弱した。セレキシパグでは反復投与による体血圧低下作用の減弱が認められなかったことから、セレキシパグはプロスタノイド構造の IP 受容体作動薬であるトレプロスチニルとは異なり、反復投与による作用の減弱を起こしにくい作動薬であることが示唆された。

2.4.2.2 副次的薬理試験

2.4.2.2.1 酵素、他の受容体等に対する作用（試験番号 1009021/1028885, 1009473/1028885, 1005432/1018091, 1009021/1018091, 1009473/1018091、資料番号 4.2.1.2-1, 4.2.1.2-2, 4.2.1.2-3, 4.2.1.2-4, 4.2.1.2-5、参考資料）

各種組織、細胞、組換え型受容体等の発現細胞を用い、種々の酵素活性、神経伝達物質受容体、その他の受容体、イオンチャネル及びトランスポーター等の結合活性に対し、セレキシパグ及び MRE-269 は 10 μmol/L を中心にした検討において 50%阻害濃度（IC_{50}）が得られるような抑制を示さなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

2.4.2.3.1 中枢神経系、心血管系、呼吸系及びその他の器官系に及ぼす影響（試験番号 4812, 4813, 6225, 4814, 4815, 4811, 5615, 5614, 6061, 5612, 5613, 6057, 6060, 6058, 6059、資料番号 4.2.1.3-1, 4.2.1.3-2, 4.2.1.3-3, 4.2.1.3-4, 4.2.1.3-5, 4.2.1.3-6, 4.2.1.3-7, 4.2.1.3-8, 4.2.1.3-9, 4.2.1.3-10, 4.2.1.3-11, 4.2.1.3-12, 4.2.1.3-13, 4.2.1.3-14, 4.2.1.3-15、評価資料）

安全性薬理試験において、中枢神経系、心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を検討した。また、その他の器官系に及ぼす影響として、腎・泌尿器系、胃腸管系、体性神経系、血液凝固系、摘出子宮平滑筋に及ぼす影響について検討した。

Irwin の多次元観察法に準じた方法を用いてラットの一般症状及び行動を観察し、中枢神経系に及ぼす影響を検討した結果、セレキシパグは 100 mg/kg で各種症状が認められた。さらにラット経口投与において、30 mg/kg 以上の用量で体温低下、100 mg/kg でヘキソバルビタール誘発睡眠の延長及び圧刺激に対する回避反応閾値の上昇が認められた。また、心血管系に及ぼす影響を検討したイヌの一般状態観察においても、1 mg/kg 以上の用量で嘔吐、3 mg/kg 以上の用量で摂餌量の減少及び軟便、10 mg/kg で下痢便（ゼリー状便）が観察された。

心血管系に対しては、*in vitro* 試験ではセレキシパグの 10 µmol/L 以上の濃度で 30%再分極時活動電位持続時間（APD_{30}）の短縮、30 µmol/L 以上の濃度で 90%再分極時活動電位持続時間（APD_{90}）の短縮及びヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）電流の抑制、100 µmol/L で静止膜電位上昇、活動電位振幅減少、収縮力増加及び拍動数増加が認められた。活性代謝物である MRE-269 は 30 µmol/L で収縮力の増加が認められたが、hERG 電流に影響は認められなかった。イヌ経口投与において、1 mg/kg 以上の用量で平均血圧の低下、拡張期血圧の低下及び QT 間隔の短縮、3 mg/kg 以上の用量で収縮期血圧の低下及び心拍数の増加が認められた。セレキシパグは 30 µmol/L で hERG 電流を抑制したが、モルモット摘出乳頭筋標本に対しては 30 µmol/L で APD_{90} を短縮し、イヌ単回経口投与においては 10 mg/kg の用量まで QT 延長は認められておらず、海外第 I 相試験（AC-065-106）における QT/QTc 評価試験においても、セレキシパグの QT 延長作用が陰性であることが確認された（2.7.2.2.2.11 項参照）ことから、セレキシパグが直接 QT 延長を引き起こすリスクは低いと考えられた。

イヌの単回経口投与時に認められた血圧低下は、セレキシパグの血管拡張作用に基づく変化であり、心拍数の増加は血圧低下に伴う変化と考えられた。

呼吸系に対しては、ラット経口投与において 30 mg/kg 以上の用量で 1 分間呼吸数、1 回換気量及び分時換気量の増加が認められた。また、イヌ経口投与において 3 mg/kg 以上の用量で呼吸数の増加が認められた。

その他の器官系に及ぼす影響として、ラット経口投与において、10 mg/kg 以上の用量で尿中 Cl^- 排泄量の減少、Na^+/K^+比の減少、小腸における炭末移行率の減少並びに胃液量及び胃液総酸度の減少、30 mg/kg 以上の用量で尿量及び尿中 Na^+排泄量の減少及び 100 mg/kg で胃液 pH の上昇が認められた。*In vitro* 試験では、MRE-269 の 30 µmol/L 以上の濃度で摘出子宮平滑筋の自動運動の収縮回数減少が認められた。

セレキシパグの消化器症状として、ラットで小腸輸送能の低下（10 mg/kg 以上、単回経口投与）、胃液量及び胃液総酸度の減少（10 mg/kg 以上、十二指腸内投与）、イヌの単回経口投与において嘔吐（1 mg/kg 以上）、摂餌量の減少及び軟便（3 mg/kg 以上）、下痢便（10 mg/kg）が認められた。臨床試験においても嘔吐、下痢等の消化器症状がプロスタサイクリン関連有害事象として認められており（2.7.4.2.1.1（1）項参照）、本薬の消化器症状はプロスタサイクリンに関連した事象と考えられた。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当試験なし。

2.4.2.5 薬理総括

近年、肺動脈性肺高血圧症の治療にプロスタサイクリン（医薬品の一般的名称はエポプロステノールナトリウム）を含むプロスタノイド構造の IP 受容体作動薬が有効であることが認められてきている[1,16]。非プロスタノイド構造のセレキシパグ及び活性代謝物である MRE-269 は選択的な IP 受容体作動薬であり、ラットでの結合親和性はそれぞれ 4098.4 ± 566.7 及び 394.3 ± 13.0 nmol/L であった。肺高血圧モデルラットでは、1 及び 3 mg/kg で薬効を示した。ラットにセレキシパグ 10 mg/kg を経口投与したときの最高血漿中濃度（C_{max}）はそれぞれ 0.35 及び 1.57 μg/mL であった（2.6.2.4.1.1 項参照）。この値を用いて概算すると、セレキシパグを 1～3 mg/kg で投与したときのセレキシパグの血漿中濃度は約 70～210 nmol/L、同様に MRE-269 は約 370～1100 nmol/L であった。セレキシパグは吸収後に血中でも MRE-269 に代謝されるためセレキシパグの血漿中濃度は MRE-269 より低い水準であった。ラットにセレキシパグの 10、30 及び 100 mg/kg を経口投与したときのセレキシパグの $AUC_{0\text{-}24hr}$ はそれぞれ 0、3 及び 19 μg·hr/mL、MRE-269 の場合はそれぞれ 12、46 及び 196 μg·hr/mL であり（2.6.2.4.1.1 項参照）、セレキシパグの曝露量は MRE-269 の 0.1 倍に満たなかった。これらの薬物動態に関する知見及び *in vitro* 薬理試験における効力も踏まえると、肺高血圧モデルラットで認められたセレキシパグの右心肥大の形成抑制等の薬理作用は、主に MRE-269 によってもたらされると考えられた。

一方、セレキシパグ及び MRE-269 のヒト IP 受容体への結合親和性はそれぞれ 263.0 ± 24.3 及び 19.8 ± 0.6 nmol/L であり、ラットより高い効力を示した。ヒト組換え型 IP 受容体の安定発現 CHO 細胞において、セレキシパグ及び MRE-269 は濃度依存的に細胞内 cAMP 生成量を最大反応にまで増加させ、その EC_{50} はそれぞれ 76.7（95%信頼区間：63.7～89.7）及び 4.98（95%信頼区間：3.69～6.26）nmol/L であった。また、ヒト初代培養肺動脈平滑筋細胞を用いて細胞形態の変化を指標とした検討では、セレキシパグ及び MRE-269 の幾何平均値での EC_{50} はそれぞれ 157 ± 1.3 及び 4.3 ± 1.2 nmol/L であり、MRE-269 の方が約 37 倍高い効力を示した。肺動脈性肺高血圧症患者への本薬の投与は、被験者ごとに至適な用量を設定するため 0.2～1.6 mg を 1 日 2 回の反復経口としている。国内第 I 相試験（NS304/P1/01）において、日本人健康成人に 0.2 mg を 1 日 2 回、食後に反復経口投与したときの定常状態におけるセレキシパグ及び MRE-269 の C_{max} は、それぞれ 2.98 ± 0.85

及び 4.24 ± 0.81 ng/mL であり、$AUC_{0\text{-}12hr}$ はそれぞれ 6.53 ± 2.36 及び 22.8 ± 5.8 ng･hr/mL であった（2.7.2.2.2.2 項参照）。このように、ヒトでの C_{max} からセレキシパグは MRE-269 の 0.7 倍程度の血漿中濃度が存在し、この値から 0.2～1.6 mg 投与時のセレキシパグ及び MRE-269 の血漿中濃度を概算すると、それぞれ約 6～48 及び約 10～80 nmol/L であった。一方、血中のセレキシパグは時間経過とともに MRE-269 への代謝が進むのに対し、MRE-269 は主代謝物として血中に長く存在した。そのため、曝露量では、セレキシパグは MRE-269 の 0.3 倍程度であった。これらの知見から、ヒトにセレキシパグを投与したときの薬効発現の主体が MRE-269 であることに変わりはないものの、セレキシパグの作用が寄与する割合はラットより高い可能性が考えられた。

安全性薬理試験から、セレキシパグの投与によりプロスタサイクリンに関連した事象を除いて臨床使用にあたり特別に注意を要する作用は認められなかった。セレキシパグ及び MRE-269 は IP 受容体に選択的に作用して平滑筋弛緩作用を示し、肺動脈圧を低下させた。また、プロスタノイド構造の IP 受容体作動薬と異なり、セレキシパグは作用の減弱を起こしにくい作動薬であることが示唆された。これらの特徴から、セレキシパグは肺動脈性肺高血圧症治療薬として有用と考えられた。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

^{14}C-セレキシパグ及び ^{14}C-MRE-269 を投与した後の生体試料中の放射能濃度は液体シンチレーション計測（LSC）法で測定した。血漿中未変化体及び代謝物濃度は、血漿を有機溶媒抽出後薄層クロマトグラフィーで分離し、ラジオルミノグラフィー（RLG）で測定した。代謝物プロファイルは、生体試料を除タンパク処理又は有機溶媒抽出後、放射線検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した。定量的全身オートラジオグラフィーの組織中放射能濃度は RLG で測定した。また、各種 *in vitro* 試験試料中の放射能濃度は LSC で測定した。

セレキシパグ又は MRE-269 を投与した後の血漿中セレキシパグ及び MRE-269 濃度は、血漿を除タンパク、有機溶媒抽出、又は固相抽出の処理後、HPLC 又は高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計（LC-MS/MS）で測定した。また、*in vitro* 試験におけるセレキシパグ、MRE-269 及び各種非標識化合物の定量分析には HPLC 又は LC-MS/MS を用いた。

2.4.3.2 吸収

2.4.3.2.1 膜透過性（試験番号B-13.028、資料番号 5.3.2.3-3、評価資料）

野生型イヌ腎臓尿細管上皮由来 II 型細胞を用いた検討において、セレキシパグの見かけの透過係数（P_{app}）は 5.4～9.1 × 10^{-6} cm/s、MRE-269 の P_{app} は 10.0～14.5 × 10^{-6} cm/s であり、いずれも膜透過性は良好であった。

2.4.3.2.2 セレキシパグの血漿中動態：単回及び反復（試験番号BP-MRE-050808, BP-MRE-050801, BP-MRE-050725, BP-MRE-050811, BP-MRE-050822, BP-MRE-050909, BP-MRE-070801, BP-MRE-080111, BP-MRE-061222, BP-MRE-070601, BP-MRE-070703、資料番号 4.2.2.2-1, 4.2.2.2-2, 4.2.2.2-3, 4.2.2.2-4, 4.2.2.2-5, 4.2.2.2-6, 4.2.2.2-7, 4.2.2.2-8, 4.2.2.2-9, 4.2.2.2-10, 4.2.2.2-11、評価資料）

セレキシパグはラット、イヌ及びカニクイザルにおいて単回経口投与後速やかに吸収され、セレキシパグ投与後の MRE-269 の最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は 1～4 時間であった。すべての動物種において MRE-269 の時間 0 から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）はセレキシパグより高く、ラット、イヌ及びカニクイザルでそれぞれセレキシパグの約 7 倍、約 13 倍及び約 3 倍であった。^{14}C-セレキシパグを非絶食下の雄性ラットに単回経口投与した場合、放射能の $AUC_{0-\infty}$及び C_{max} は投与量に比例した増加を示した。^{14}C-セレキシパグを絶食下及び非絶食下で雄性ラットに単回経口投与した場合、食餌状態が非絶食では ^{14}C-セレキシパグの吸収速度は低下したが吸収量は低下しなかった。^{14}C-セレキシパグを雌雄ラットに単回経口投与した後の薬物動態に性差は認められなかった。セレキシパグを単回経口投与した後の MRE-269 の生物学的利用率（BA）はラットで 55%、カニクイザルで 52%であった。^{14}C-セレキシパグをラットに 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した場合、血漿中動態は 5 回投与でほぼ定常状態に達した。7 回、10 回及び 14

回投与した後の C_{max} は初回投与の 1～1.3 倍、$AUC_{0\text{-}24hr}$ は 0.9～1.2 倍であり、t_{max} 及び消失半減期（$t_{1/2}$）は初回投与時とほぼ同じであった。

2.4.3.2.3 MRE-269 の血漿中動態（試験番号BP-MRE-050801，BP-MRE-050811，BP-MRE-050909, BP-MRE-080111, BP-MRE-061222、資料番号 4.2.2.2-2, 4.2.2.2-4, 4.2.2.2-6，4.2.2.2-8，4.2.2.2-9、評価資料）

^{14}C-MRE-269 を雌雄ラットに単回静脈内投与した後の薬物動態に性差は認められなかった。MRE-269 はラット及びイヌにおいて単回経口投与後速やかに吸収され、投与後 1～1.5 時間後で C_{max} に到達した。MRE-269 の BA はラットで 57%であった。^{14}C-MRE-269 をラット及びカニクイザルに単回静脈内投与した後の MRE-269 の $t_{1/2}$ はそれぞれ 6.6 時間及び 7.5 時間であった。

2.4.3.3 分布

2.4.3.3.1 タンパク結合及び血球移行（試験番号BP-MRE-060428, 8203016, BP-MRE-060130、資料番号 4.2.2.3-1，5.3.2.1-1，5.3.2.1-2、評価資料）

ラット、イヌ、カニクイザル及びヒトの血清に対するセレキシパグ及び MRE-269 のタンパク結合率は、それぞれ 97.3%～98.9%及び 96.6%～98.7%であった。マウス、ラット、ウサギ、イヌ、カニクイザル及びヒトの血漿に対するセレキシパグ及び MRE-269 のタンパク結合率は、それぞれ 98.8%～99.8%及び 98.9%～99.8%であった。マウス及びラットの血清及び血漿では、セレキシパグが速やかに加水分解されるため、MRE-269 のみを検討した。いずれも高いタンパク結合率を示し、種差や濃度依存性は認められなかった。

^{14}C-セレキシパグをラットに単回経口投与した 2 及び 168 時間後の血清及び肝臓中に共有結合が確認されたが、その量はわずかであった。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ、カニクイザル及びヒトの新鮮血におけるセレキシパグ及び MRE-269 の血液／血漿比はそれぞれ 0.54～0.75 及び 0.54～0.77 であり、血球移行は低いことが示された。マウス及びラットの血液では、セレキシパグが速やかに加水分解されるため、MRE-269 についてのみを検討した。

2.4.3.3.2 雌雄ラットの組織分布（試験番号BP-MRE-070801，B-10.526，BP-MRE-051114，BP-MRE-091116，BP-MRE-061204、資料番号 4.2.2.2-7，4.2.2.3-2，4.2.2.3-3，4.2.2.3-4，4.2.2.3-5、評価資料）

白色雌雄ラット及び有色雄性ラットに、^{14}C-セレキシパグを単回経口投与した後の放射能は全身に分布し、ほとんどの組織で投与後 1 時間で最高放射能濃度を示した。放射能濃度の高い組織は消化管、胆管、肝臓、膵臓、腎臓及び副腎であり、その他のほとんどの組織では血漿より濃度が低かった。組織中放射能濃度は血漿と同様の推移で減少し、投与後 72 時間で放射能が検出された組織は肝臓及び腎臓のみであった。また、有色ラットでメラニン含有組織への放射能の移行性を検討し、眼球及び皮膚への分布はわずかであると考えられた。

白色雄性ラットに ^{14}C-セレキシパグを 1 日 1 回 14 日間反復経口投与後 1 時間の組織中放射能濃度は、初回投与時の分布傾向と類似していた。反復投与終了後の組織中放射能濃度の消失は単回投与後と比較し緩やかであるが、反復投与による組織残留性はないと判断した。

2.4.3.3.3 妊娠又は授乳動物における動態（試験番号B-10.526, BP-MRE-091013[redacted]-6312-[redacted]、資料番号 4.2.2.3-2，4.2.2.3-6，4.2.2.3-7、評価資料）

妊娠ラットに ^{14}C-セレキシパグを単回経口投与後 1 時間の胎児中の放射能は母動物血漿中放射能濃度の約 8%で、投与後 24 時間では定量下限未満であった。一方、母動物血漿中では投与後 24 時間でも放射能が検出されたことから、^{14}C-セレキシパグ投与後の放射能の一部は胎盤を通過することが示された。

哺育中の雌性ラットに ^{14}C-セレキシパグを単回経口投与後の乳汁中放射能濃度は、投与後 4.3 時間に最高濃度に達し、48 時間以降は検出限界未満となり、$t_{1/2}$ は 7.3 時間であった。同時に測定した血漿中放射能濃度推移と比較した場合、乳汁中への放射能の曝露は血漿中の約 2 倍であったが、消失挙動は同様であった。

2.4.3.4 代謝

2.4.3.4.1 代謝：*In vitro*（試験番号B-09.223、資料番号 5.3.2.2-1、評価資料）

セレキシパグをヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞で反応させたとき、18 種の代謝物が生成した。いずれの試料においても MRE-269 が主たる代謝物であり、続いて MRE-269 の水酸化体である MRE-6300（P10）の生成量が多く、その他の代謝物の生成量はわずかであった。ほとんどの代謝物はヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞の両方で生成し、セレキシパグの代謝は大部分が第一相反応であると考えられた。

セレキシパグから MRE-269 への加水分解はカルボキシルエステラーゼ（CES）による反応であり、シトクロム P450（CYP）を介した反応ではなかった。MRE-269 のヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞での代謝速度は、セレキシパグの代謝速度に比較して遅かった。MRE-269 から生成した代謝物は 14 種存在し、セレキシパグの代謝物とおおむね同様であった。

セレキシパグ及び MRE-269 のラット、イヌ及びカニクイザルにおける *in vitro* 代謝はヒトに類似したものであった。

2.4.3.4.2 代謝：*In vivo*（試験番号B-09.222，BP-MRE-061124，B-09.317，BP-MRE-071010，BP-MRE-081014，B-11.415、資料番号 4.2.2.4-1，4.2.2.4-2，4.2.2.4-3，5.3.2.2-7，5.3.2.2-8，5.3.2.2-9、評価資料）

セレキシパグをラットに単回経口投与した後の血漿では MRE-269 が主代謝物であり、次いで MRE-269 のアシルグルクロン酸抱合体である MRE-6001（P11）及びセレキシパグが 2 段階に脱アルキル化された P14 が代謝物として認められた。セレキシパグ及び MRE-269 は尿中に排泄されず、胆汁中には 9 種の代謝物が存在し、MRE-269、MRE-6001（P11）、フェニル基の水酸化体である P8 及び未同定代謝物の P9 が主な代謝物であった。

セレキシパグをイヌに単回経口投与した後の血漿中に存在していたのは、主としてセレキシパグと MRE-269 であり、投与量の 34%が未変化体として胆汁中に排泄された。尿中にセレキシパグはごく少量存在していたが、MRE-269 は認められなかった。イヌの胆汁中の主代謝物はラットと類似しており、MRE-269、P8、P9、MRE-6300（P10）及び MRE-6001（P11）であった。

セレキシパグをヒトに反復経口投与した後の血漿からは 9 種の代謝物が検出されたが、このうち $AUC_{0\text{-}t}$ に基づく総曝露量の 10%を超えたのはセレキシパグと活性代謝物である MRE-269 のみであった。その他の代謝物の曝露量は総曝露量の 3%未満であると考えられた。尿中にセレキシパグ及び MRE-269 はほとんど排泄されなかった。糞中に排泄される主代謝物は MRE-6300（P10）及び MRE-6302（P18）であり、MRE-269 も検出された。

2.4.3.4.3 代謝酵素の同定及び推定代謝経路（試験番号B-09.223，BP-MRE-080514, BP-MRE-080715, B-13.107[redacted]-6034-[redacted]-6035-[redacted], BP-MRE-081014, B-11.415、資料番号 5.3.2.2-1，5.3.2.2-2，5.3.2.2-3，5.3.2.2-4，5.3.2.2-5，5.3.2.2-6，5.3.2.2-8，5.3.2.2-9、評価資料）

セレキシパグのラット、イヌ及びヒトにおける推定代謝経路を図 2.4.3.4.3-1 に示す。複数の経路から生成する代謝物が多数存在するため代謝経路の概略を示した。

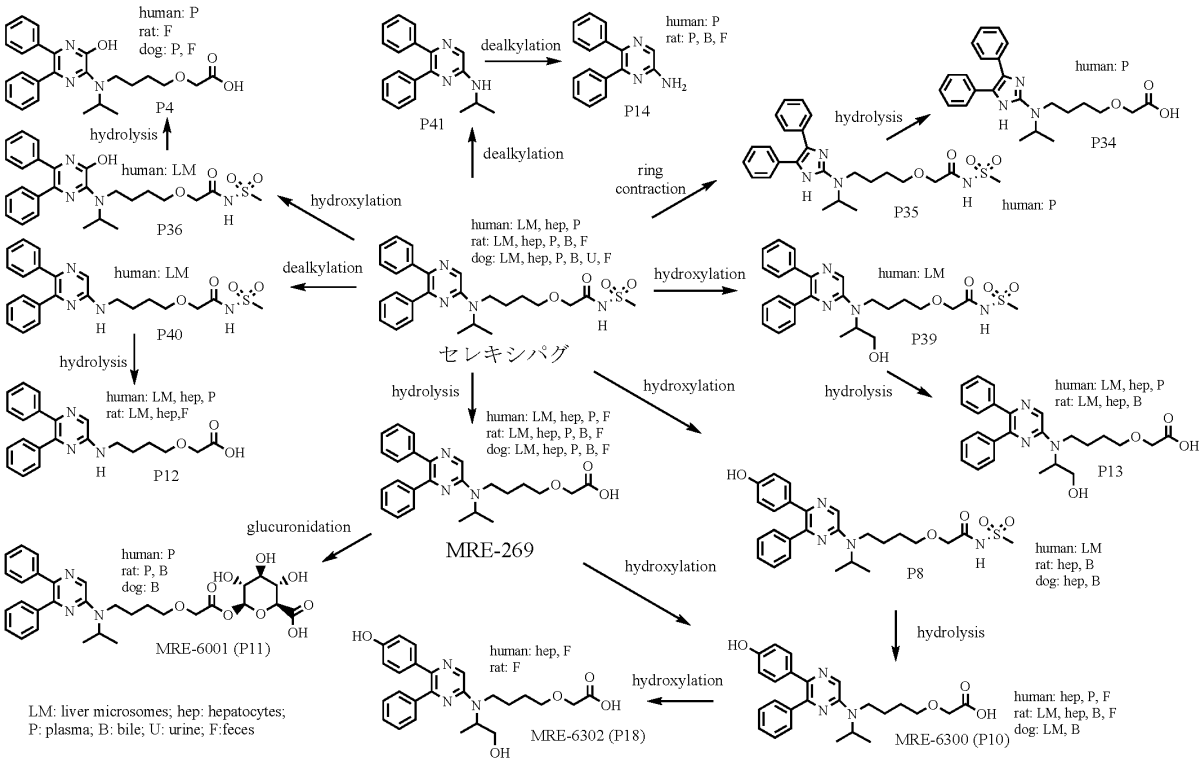


図 2.4.3.4.3-1 セレキシパグのラット、イヌ及びヒトにおける推定代謝経路

セレキシパグは主として加水分解により MRE-269 へと代謝され、この反応には主に肝臓中の CES1 が関与し、げっ歯類では血漿中の CES1 も関与していると考えられた。MRE-269 はグルクロン酸抱合を受け MRE-6001（P11）へと代謝され、この反応には主としてウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）1A3、次いで UGT2B7 及び UGT1A1 が寄与していた。セレキシパグ及び MRE-269 の酸化的代謝には CYP2C8 及び CYP3A4 が関与していた。また、セレキシパグの酸化的代謝物からの加水分解には CES が寄与していた。

2.4.3.4.4 アシルグルクロン酸抱合体MRE-6001（P11）の共有結合（試験番号BP-MRE-060428, BP-MRE-060306、資料番号 4.2.2.3-1，5.3.2.2-15、評価資料）

^{14}C-MRE-6001（P11）の *in vitro* におけるヒト血清アルブミンに対する共有結合率は反応時間と共に増加し 24 時間では 22%となった。また、リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.6）中で反応させたところアシル基の転移反応が確認された。一方、^{14}C-セレキシパグをラットに単回経口投与後、血清タンパクや肝臓組織に共有結合する放射能が認められるものの、結合量は低かった。

アシルグルクロン酸抱合体である MRE-6001（P11）はヒト血清タンパクとの共有結合性及びアシル転移反応が確認されたが、MRE-6001（P11）の曝露量は総曝露量の 3%未満であると考えられたこと（2.4.3.4.2 項参照）及びセレキシパグの臨床用量が 1 日最大 3.2 mg と低いことからすると、共有結合による特異体質性薬物反応が起こる可能性は極めて低いと考えられた。

2.4.3.4.5 CYP誘導及び阻害（試験番号[redacted]080300，[redacted]080298，[redacted]090212，B-14.007，B-14.022，[redacted]080299、資料番号 4.2.2.4-4，5.3.2.2-10，5.3.2.2-11，5.3.2.2-12，5.3.2.2-13，5.3.2.2-14、評価資料）

セレキシパグ及び MRE-269 は *in vitro* において CYP1A2 を誘導しないが、CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導し、CYP2C9 についても誘導する可能性が考えられた。CYP2C9 及び CYP3A4 の誘導はプレグナン X 受容体を介したものであると推察された。また、ラットにおいては、セレキシパグは酵素誘導作用を示さなかった。

セレキシパグの CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4 に対する IC_{50} は 50 µmol/L 付近かそれを上回っており、これらの分子種に対する阻害作用は弱いと考えられた。一方で CYP2C8 及び CYP2C9 に対する IC_{50} はそれぞれ 3.6 及び 8.3 µmol/L、Ki はそれぞれ 2.0 及び 3.5 µmol/L であり、他の分子種と比較して強い阻害を示した。MRE-269 についてもセレキシパグと同様の結果であり、CYP2C8 及び CYP2C9 を除く分子種の IC_{50} はいずれも 50 µmol/L を超えていた。CYP2C8 及び CYP2C9 に対する IC_{50} はそれぞれ 15 及び 32 µmol/L、Ki はそれぞれ 11 及び 15 µmol/L であった。また、セレキシパグ及び MRE-269 は、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6 及び CYP3A4 に対する時間依存型阻害は示さなかった。

セレキシパグ及び MRE-269 による *in vitro* CYP 誘導及び阻害作用が確認されたが、臨床用量での血漿中濃度域よりも高い濃度域での作用であり、CYP 誘導及び阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性はほとんどないと考えられた。

2.4.3.5 排泄

2.4.3.5.1 尿糞中排泄（試験番号BP-MRE-070801，BP-MRE-061222，BP-MRE-070703，BP-MRE-061006，193914、資料番号 4.2.2.2-7，4.2.2.2-9，4.2.2.2-11，4.2.2.5-1，4.2.2.5-2、評価資料）

雄性ラットに ^{14}C-セレキシパグを単回経口投与、又は ^{14}C-MRE-269 を単回経口投与及び単回静脈内投与した後の 168 時間までの尿中排泄率は約 5%、糞中排泄率は約 90%であり、いずれの場合でも同様の排泄挙動を示した。雄性ラットに ^{14}C-セレキシパグを 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した際の、反復投与期間中の放射能の累積投与量に対する尿及び糞中排泄率に、投与回数に伴う変動は認められなかった。最終投与後 168 時間までの累積排泄率は尿中に約 6%、糞中に約 90%であり、投与したほぼ全ての放射能が排泄されたことより、体内での残存はないと判断した。

^{14}C-セレキシパグを雄性イヌに単回経口投与又は単回静脈内投与した後の、192 時間までの尿中排泄率は約 3%～5%、糞中排泄率は約 80%～90%であり、投与経路にかかわらず同様の排泄挙動を示した。

雄性カニクイザルに ^{14}C-セレキシパグを単回経口投与又は ^{14}C-MRE-269 を単回静脈内投与した後の、168 時間までの尿中排泄率は約 15%～16%、糞中排泄率は約 77%であった。

^{14}C-セレキシパグ及び ^{14}C-MRE-269 の尿糞中排泄挙動は、検討した全ての動物種において同様であり、主な排泄経路は糞中であった。

2.4.3.5.2 胆汁中排泄（試験番号B-09.222，B-09.317，BP-MRE-051024、資料番号 4.2.2.4-1，4.2.2.4-3，4.2.2.5-3、評価資料）

^{14}C-セレキシパグを雄性ラットに単回経口投与又は単回静脈内投与した後 96 時間までの放射能の胆汁中排泄率は、経口投与時には 54.9%～77.9%、静脈内投与時には 88.9%～95.5%であり、糞中排泄率は経口投与時には 18.1%～39.5%、静脈内投与時には 2.39%～5.53%であり、尿中排泄率はいずれの投与経路でも 0.87%～6.34%と低かった。雄性ラットに ^{14}C-MRE-269 を単回静脈内投与した後の 24 時間までの放射能の胆汁中排泄率は 90.17%であった。

雄性イヌに、^{14}C-セレキシパグを単回経口投与又は単回静脈内投与、若しくは ^{14}C-MRE-269 を単回静脈内投与した後 96 時間までの放射能の胆汁中排泄率は 80.1%～88.9%、糞中排泄率は 4.9%～11.6%、尿中排泄率は 0.5%～2.0%であった。

^{14}C-セレキシパグ及び ^{14}C-MRE-269 の胆汁中排泄挙動は、ラット及びイヌにおいて同様であった。

2.4.3.5.3 腸肝循環（試験番号BP-MRE-061127、資料番号 4.2.2.5-4、評価資料）

^{14}C-MRE-269 を Donor ラットに単回静脈内投与した後、3 時間までの胆汁中排泄率は 79.18%であり、Recipient ラットの十二指腸内に Donor ラットの胆汁を注入した後、24 時間までの胆汁中排泄率は 52.63 ± 1.20%、尿中排泄率は 1.88 ± 0.23%であり、それらの総和である再吸収率は 54.51 ± 1.42%であった。これらより、放射能の腸肝循環が認められた。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

2.4.3.6.1 トランスポーターの基質認識性（試験番号B-11.386, B-13.028、資料番号 5.3.2.3-2, 5.3.2.3-3、評価資料）

セレキシパグは P 糖タンパク（P-gp）の弱い基質であり、MRE-269 は P-gp の基質ではなかった。セレキシパグは乳癌耐性タンパク（BCRP）の基質ではないが、MRE-269 は BCRP の基質であった。セレキシパグは有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質であり、MRE-269 は OATP1B3 の基質であった。MRE-269 は多剤耐性関連タンパク（MRP）2、胆汁酸トランスポーター（BSEP）及び多剤排出輸送体（MATE）1 の基質ではなかった。

2.4.3.6.2 トランスポーター阻害作用（試験番号B-09.319, B-11.386, B-14.028、資料番号 5.3.2.3-1, 5.3.2.3-2, 5.3.2.3-4、評価資料）

セレキシパグ及び MRE-269 とも P-gp 輸送活性に影響を及ぼさないと考えられた。セレキシパグは有機カチオントランスポーター（OCT）1、OCT2、BSEP、MATE1、MATE2K 及び MRP2 を阻害し、その IC_{50} は 11～100 μmol/L 以上であった。また、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び OAT3 を強く阻害し、IC_{50} は 1.4～2.4 μmol/L であった。MRE-269 の各トランスポーターに対する阻害作用はセレキシパグと概ね類似しており、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 に対する IC_{50} は 2.1～5.6 μmol/L であった。セレキシパグ及び MRE-269 による *in vitro* トランスポーター阻害作用が確認されたが、臨床用量での血漿中濃度域よりも高い濃度域での作用であり、トランスポーター阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性はほとんどないと考えられた。

2.4.3.7 薬物動態総括

セレキシパグの吸収、代謝、分布及び排泄について検討した。セレキシパグの活性代謝物 MRE-269 は、セレキシパグを経口投与後のラット、イヌ及びカニクイザルの血漿中で認められ、その他の代謝物を含めてヒト特異的血漿中代謝物はなかった。ラットに ^{14}C-セレキシパグを経口投与した後の放射能は全身に分布し、放射能は特定の組織に残留することなく主に糞中に排泄された。また、イヌ及びカニクイザルにおいても、^{14}C-セレキシパグを経口投与した後の放射能の主な排泄経路は糞中であり、ヒトでも同様であった。

セレキシパグは CYP2C8 及び CYP2C9 阻害作用、CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 誘導作用、並びに数種の薬物トランスポーター分子種に対する阻害作用を示し、MRE-269 も類似した作用を示した。しかしながら、これらの作用はセレキシパグの臨床用量での血漿中濃度域よりも高い濃度域での作用であり、ヒト血漿タンパク結合率が 99%以上であるため血漿中非結合型薬物濃度は非常に低いことから、臨床における薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.4.4 毒性試験

セレキシパグの毒性評価のために、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、局所刺激性試験、毒性発現機序に関する試験及び光毒性試験を実施した（表 2.6.6.1-1 参照）。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

2.4.4.1.1 マウス、ラット及びイヌを用いた試験（試験番号TX-1341，TX-1305，TX-1340，TX-1296、資料番号 4.2.3.1-1，4.2.3.1-2，4.2.3.1-3，4.2.3.1-4、評価資料）

ラット（TX-1305）に経口投与した際の概略の致死量は 500 mg/kg であり、致死量付近では、腹臥位、側臥位、活動性低下、筋緊張低下、呼吸数増加、体温低下及び潮紅が認められた。

イヌ（TX-1296）に経口投与した際の概略の致死量は 2000 mg/kg であり、腸重積がその死因であった。同群では頻脈及び潮紅が認められたほか、20 mg/kg 以上で下痢便及び水様便が認められた。

マウス（TX-1341）及びラット（TX-1340）に静脈内投与した際の概略の致死量は 40 mg/kg 超であり、40 mg/kg 投与群で尾部の脱落が認められた。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

マウス、ラット及びイヌを用いてセレキシパグの反復投与毒性をそれぞれ 13 週、26 週及び 39 週まで経口投与して評価した。また一部の試験では休薬群を設けて、投与により誘発された変化の回復性を確認した。なお、無毒性量（NOAEL）の評価にあたり、潮紅についてはセレキシパグの血管拡張作用を反映した変化と考え、毒性とは判断しなかった。

2.4.4.2.1 マウス反復投与試験（試験番号[redacted]-5938、資料番号 4.2.3.2-2、評価資料）

がん原性試験の用量設定を目的としてマウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験を実施した。

本試験（用量：0、100、300 及び 500 mg/kg）では、300 mg/kg 以上の投与群で潮紅、筋緊張の低下、総コレステロールの高値及び小葉中心性の肝細胞肥大が、500 mg/kg 投与群ではいずり姿勢、眼脂並びにクレアチンキナーゼ及びアラニンアミノトランスフェラーゼの高値が認められた。以上のことから NOAEL は 100 mg/kg と判断した。

2.4.4.2.2 ラット反復投与試験（試験番号TX-1308，TX-1339，[redacted]-5895、資料番号 4.2.3.2-3，4.2.3.2-4，4.2.3.2-5、評価資料）

セレキシパグの反復投与時の毒性をラットに 26 週間まで反復経口投与して評価した。なお、4 週間反復投与毒性試験については、初回の試験で NOAEL を求めることができなかったため、追加試験を実施した。

主な変化として、4 週間反復投与毒性試験（TX-1308、用量：0、20、60、180 mg/kg；TX-1339、用量：0、2、6、60 mg/kg）では潮紅をはじめとしたセレキシパグの薬理作用を反映した変化に加

え、尿量の増加、血小板数の低値及び小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。これらに加え、26 週間反復投与試験（[redacted]-5895、用量：0、6、25、100 mg/kg）では甲状腺濾胞細胞の過形成、副腎の球状帯の肥大、乳腺腺房細胞の過形成及び唾液腺（顎下腺）腺房細胞の肥大が認められた。肝細胞肥大については、4 週間反復投与試験の電子顕微鏡検査の結果から、滑面小胞体の増生による変化であることが明らかとなった。これらの変化は休薬により良好な回復性を示した。4 週間及び 26 週間反復投与試験において、NOAEL はいずれも 6 mg/kg と判断した。

2.4.4.2.3 イヌ反復投与毒性試験（試験番号TX-1309，TX-1360，[redacted]-5896、資料番号 4.2.3.2-6，4.2.3.2-7，4.2.3.2-8、評価資料）

セレキシパグの反復投与時の毒性をイヌに 39 週間まで反復経口投与して評価した。

イヌでは各試験を通じて腸重積を特徴とした消化管障害が認められ、腸重積による死亡も観察された。更に骨形成の亢進、骨髄の線維化及び骨髄造血組織の変化（減少若しくは増加）が観察された。これらの変化は休薬により回復傾向を示した。NOAEL は 2 週間反復投与試験（TX-1309、用量：0、2、6、20 mg/kg）で 2 mg/kg、4 週間反復投与試験（TX-1360、用量：0、1.5、3、6 mg/kg）で 1.5 mg/kg であったが、39 週間反復投与試験（[redacted]-5896、用量：0、1、2、4 mg/kg）では低用量である 1 mg/kg 投与群から骨組織及び骨髄造血組織の変化が観察され、NOAEL は 1 mg/kg 未満と判断した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

2.4.4.3.1 *In vitro*及び*in vivo*試験（試験番号TX-1299，TX-1304，TX-1321，TX10738、資料番号 4.2.3.3.1-1，4.2.3.3.1-2，4.2.3.3.2-1，4.2.3.3.2-2、評価資料）

セレキシパグの遺伝毒性を、*in vitro* 試験では細菌を用いる復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、*in vivo* 試験ではマウス骨髄を用いる小核試験及びラット肝臓を用いるコメットアッセイで評価した。

セレキシパグは細菌を用いる復帰突然変異試験（TX-1299）では陰性であったが、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（TX-1304）において、細胞毒性が認められ、所定の観察細胞数が得られない濃度で染色体異常誘発性を示した。一方、マウス骨髄を用いる小核試験（TX-1321）及びラット肝臓を用いるコメットアッセイ（TX10738）で陰性を示したことから、セレキシパグが *in vivo* において遺伝毒性を示す可能性は低いと判断した。

2.4.4.4 がん原性試験

2.4.4.4.1 長期がん原性試験（試験番号[redacted]-5939，[redacted]-5940、資料番号 4.2.3.4.1-1，4.2.3.4.1-2、評価資料）

セレキシパグのがん原性をマウス及びラットを用いて 24 ヵ月間の反復投与により評価した。

マウス 24 ヵ月間がん原性試験（[redacted]-5939、用量：0、125、250、500 mg/kg）では、250 mg/kg 以上の投与群で甲状腺濾胞細胞について腫瘍性変化の増加傾向が認められ、125 mg/kg 以上の投与群

では甲状腺濾胞細胞の過形成/肥大が認められた。甲状腺腫瘍に関しては別途機序検討試験を行い、ヒトへの外挿性を評価した（2.4.4.7.2.1 項参照）。

ラット 24 ヵ月がん原性試験（[redacted]-5940、用量：0、10、30、100 mg/kg）では、100 mg/kg 投与群において精巣のライディッヒ細胞腫の増加傾向が認められ、過形成の発生率も同群では高値を示した。また 30 mg/kg 以上の投与群で網膜の小動脈の拡張及び蛇行が認められたが、関連する病理学的な変化は観察されなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

セレキシパグの生殖発生毒性を、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラットあるいはウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験で評価した。また、幼若イヌに 39 週間まで反復経口投与して新生児への影響を評価した。

2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（試験番号[redacted]-950、資料番号 4.2.3.5.1-1、評価資料）

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（用量：0、6、20、60 mg/kg）では、20 mg/kg 以上の投与群で親動物に筋緊張の低下及び継続的な摂餌量の低値が認められ、60 mg/kg 投与群の雄で交配前投与期間最終日に体重の増加抑制が、雌で性周期の延長が認められた。一方、生殖能及び胎児の発育状態にセレキシパグ投与の影響が認められなかったことから、親動物の一般毒性に対する NOAEL は 6 mg/kg、生殖能及び胚・胎児に対する NOAEL はいずれも 60 mg/kg と判断した。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験（試験番号[redacted]-951[redacted]-952、資料番号 4.2.3.5.2-2, 4.2.3.5.2-5、評価資料）

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（[redacted]-951、用量：0、2、6、20 mg/kg）では、20 mg/kg 投与群で母動物に筋緊張の低下、摂餌量の継続的な低値及び体重の増加抑制が認められ、生殖能では生存胎児の平均体重の低値が認められた。したがって、母動物の一般毒性、生殖能並びに胚・胎児に対する NOAEL は、いずれも 6 mg/kg と判断した。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（[redacted]-952、用量：0、3、10、30 mg/kg）では、30 mg/kg 投与群で母動物に呼吸数の増加及び活動性の低下並びに投与初期の摂餌量の低値、体重減少及び肛門周囲の被毛の汚れが観察され、死亡も 1 例認められたが、生殖能及び胎児の発生にはセレキシパグ投与の影響が認められなかった。したがって、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 10 mg/kg、生殖能及び胚・胎児に対する NOAEL は 30 mg/kg と判断した。

2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（試験番号[redacted]-1048、資料番号 4.2.3.5.3-1、評価資料）

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（用量：0、2、6、20 mg/kg）では、20 mg/kg 投与群で母動物に筋緊張の低下、摂餌量の継続的な低値及び体重の増

加抑制が認められたが、生殖能及び出生児の発達にセレキシパグ投与の影響は認められなかった。したがって、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 6 mg/kg、生殖能及び出生児に対する NOAEL は 20 mg/kg と判断した。

2.4.4.5.4 新生児（幼若動物）における試験（試験番号T-12.357、資料番号 4.2.3.5.4-2、評価資料）

セレキシパグの幼若動物への影響を幼若イヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験で評価した。その結果、体重の増加抑制に起因した性成熟の遅れ及び骨端成長板の閉鎖遅延が観察された。その他、成熟動物と同様に消化管、骨組織及び骨髄の変化が観察されたが、幼若動物に特異的な毒性変化は認められなかった。なお、低用量である 1 mg/kg 投与群で骨組織の変化が認められたことから、NOAEL は 1 mg/kg 未満と判断した。

2.4.4.6 局所刺激性試験

2.4.4.6.1 ウサギ局所刺激性試験（試験番号T-12.570、資料番号 4.2.3.6-1、評価資料）

セレキシパグの局所刺激性をウサギを用いて評価した。その結果、セレキシパグは局所刺激性を示さなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 免疫毒性試験

毒性試験から得られた所見、セレキシパグの薬理学的性質、適応患者集団、免疫毒性が知られている化合物との構造類似性、薬物の分布及び臨床情報を考慮した結果、その必要性がないと判断し、実施しなかった。

2.4.4.7.2 毒性発現の機序に関する試験

マウスがん原性試験で認められた甲状腺濾胞細胞の腫瘍性変化について発現メカニズムを検討した。

2.4.4.7.2.1 肝薬物代謝酵素及び甲状腺ホルモンに対する影響検討試験（試験番号TX10737、資料番号 4.2.3.7.3-1、評価資料）

マウスがん原性試験（2.6.6.5.1.1 項参照）において甲状腺濾胞細胞の腫瘍性変化の増加が認められたことから、その発現機序を検討するためマウスに 28 日間反復投与し、セレキシパグの肝薬物代謝酵素活性及び甲状腺関連ホルモンに対する影響を検討した。その結果、サイロキシン UGT をはじめとした肝薬物代謝酵素の誘導と血漿中甲状腺刺激ホルモン（TSH）の増加が確認された。以上のことから、マウスがん原性試験で認められた甲状腺腫瘍の増加は、甲状腺ホルモンの代謝が促進されることによるフィードバック機構を介した変化であり、げっ歯類ではその感受性が高いことから、ヒトへの外挿性に乏しいものと推察された。

2.4.4.7.3 依存性試験

本薬は中枢作用がないことから実施しなかった。

2.4.4.7.4 代謝物の毒性試験（試験番号TX-1298，TX-1303、資料番号 4.2.3.7.5-1，4.2.3.7.5-2、評価資料）

MRE-269 の遺伝毒性を、細菌を用いる復帰突然変異試験及び哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で評価した。

MRE-269 は細菌を用いる復帰突然変異試験（TX-1298）及び哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（TX-1303）において共に陰性であり、遺伝毒性を示さないと考えられた。

2.4.4.7.5 不純物の毒性試験（試験番号[redacted]01-4608[redacted]01-4609[redacted]01-4637[redacted]01-4102[redacted]01-4103，[redacted]01-4104，1327/0063，1327/0064，1327/0065、資料番号 4.2.3.7.6-1，4.2.3.7.6-2，4.2.3.7.6-3，4.2.3.7.6-4，4.2.3.7.6-5，4.2.3.7.6-6，4.2.3.7.6-7，4.2.3.7.6-8，4.2.3.7.6-9、参考資料）

セレキシパグはその活性代謝物でもある MRE-269 を不純物として含んでおり、動物やヒトの試験を通じてその安全性は担保されたと判断した。その他、セレキシパグの製造工程及びセレキシパグに含まれる不純物として管理する MRE-7300、MRE-7301、MRE-7307、MRE-9300、MRE-9301、MRE-9302、MRE-9304、MRE-9305 及び MRE-9306 について細菌を用いた復帰突然変異試験を行ったところ、すべて陰性であった。

2.4.4.7.6 光毒性試験（試験番号T-13.090，T-13.091、資料番号 4.2.3.7.7-1，4.2.3.7.7-2、評価資料）

セレキシパグ（T-13.090）及び MRE-269（T-13.091）の光安全性を評価するためマウス線維芽細胞（Balb/c 3T3）を用いた *in vitro* 光毒性試験を行ったところ、両物質とも陽性を示した。一方、セレキシパグのヒトを対象とした光安全性試験は陰性であり（2.7.6.10 項参照）、また臨床試験において光毒性を示唆する有害事象は認められていない（2.7.4.2.1.5（11）項参照）ことから、ヒトにおいて光毒性に関する懸念は低いものと判断した。

2.4.4.8 毒性総括

セレキシパグの単回経口投与時の概略の致死量はラットで 500 mg/kg、イヌで 2000 mg/kg であり、単回静脈内投与時の概略の致死量はマウス、ラット共に 40 mg/kg 超であった。これらの単回投与毒性試験では、セレキシパグの薬理作用である血管拡張作用を反映した潮紅が観察されたのに加え、血管拡張による血圧の低下を示唆する変化として活動性低下、筋緊張低下、腹臥位、側臥位及び尾部の黒色化ないし脱落などの変化が認められた。特にラットでは血管拡張による過大な血圧の低下が主要な死因と推察された。更にイヌでは嘔吐に加えて下痢便や水様便が観察され、腸重積による死亡が認められた。PGI_2 の投与によってイヌでは小腸の蠕動運動が抑制されること

から[17]、イヌで認められた腸重積はセレキシパグの薬理作用に関連した消化管蠕動運動の不調和が原因と考えられた。イヌは腸重積を発症する動物種であることが知られており[18]、腸重積あるいは重篤な下痢が他の IP 受容体アゴニストにおいてイヌで報告されている[19,20,21]が、他の動物種では認められないことから、イヌは IP 受容体アゴニストによる腸重積への感受性が高いと考えられた。一方、ヒトの腸重積は消化管腫瘍などの基礎疾患が原因となることが多い稀な疾患であり[22,23]、PGI_2 及びその類似化合物の副作用として一般的に認識されているものではない[24]。以上のことから、腸重積はセレキシパグの投与に起因した変化ではあるが、イヌは IP 受容体アゴニストによる腸重積への感受性が高いと考えられ、本変化が直ちにヒトのリスクに直結しないものと考えられた。実際、腸重積はセレキシパグの一連の毒性試験を通じてほかの動物種では観察されておらず、またセレキシパグの臨床試験においても認められていない（2.7.4.2.1 項参照）。

反復投与毒性試験における NOAEL は、マウス 13 週間試験で 100 mg/kg、ラットの 4 週間及び 26 週間試験で 6 mg/kg、イヌの 2 週間試験で 2 mg/kg、4 週間試験で 1.5 mg/kg、39 週間試験で 1 mg/kg 未満とそれぞれ判断した。マウス及びラットへの経口投与では潮紅及び筋緊張の低下が認められ、ラットでは高用量の投与により尾部の黒色化及び脱落が認められた。上記の変化はセレキシパグの血管拡張作用に起因した変化と考えられた。その他、両動物種を通じて酵素誘導による小葉中心性の肝細胞肥大が認められたのに加え、ラットでは尿量の増加、甲状腺濾胞上皮細胞の過形成、副腎皮質（球状帯）の肥大、乳腺腺房細胞の過形成及び顎下腺腺房細胞の肥大が認められた。なお、ラットへの経口投与では血小板数の低値が認められたが、軽微な変化であり、また、イヌでは腸重積などの消化管の異常に伴う血小板数の低値が認められた場合を除き、血小板数の変化は明確でなかった。以上より、血小板数の変動はヒトに対してリスクの低い変化と考えられた。上記したこれらの変化は、休薬期間終了時にいずれも良好な回復性を示すことがラットで確認され、ラット 26 週間反復投与試験ではセレキシパグで約 3 倍、MRE-269 で約 21 倍の安全域が示された（表 2.6.6.9.2-1 及び表 2.6.6.9.2-2 参照）。イヌでは単回投与試験で見られたのと同様に下痢便、血便などの便の異常及び腸重積が認められた。腸重積を含む消化管の異常については、単回投与試験で述べたようにヒトへの直接的なリスクを示すものではないと考えられた。また、大腿骨及び胸骨では骨形成の亢進、骨髄造血組織の線維化及び骨髄造血組織の減少若しくは増加が認められた。イヌの 4 週間反復投与試験で認められた骨形成の増加は、4 週間の休薬期間終了時にも継続して認められたが、関連する骨髄の線維化は消失しており、その回復傾向が確認された。イヌの 39 週間反復投与毒性試験において骨及び骨髄の変化は最低用量から認められ NOAEL を確認することができなかったが、本変化は EP_4 受容体を介した MRE-269 のイヌ特異的な作用によるものと考えられ（2.6.2.2.2.2 項参照）、ヒトへの外挿性を欠く変化と考えられた。

遺伝毒性に関して、セレキシパグ及び MRE-269 は細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性を示し、MRE-269 は哺乳類細胞を用いる染色体異常試験でも陰性を示した。一方、セレキシパグは哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験では陽性を示したが、マウスを用いた小核試験及びラットを用いたコメットアッセイでは共に陰性を示した。以上より、セレキシパグは生体内で遺伝毒性を示さないと判断した。

マウス及びラットを用いたがん原性試験では、腫瘍性変化としてマウスでは甲状腺濾胞細胞由来腫瘍の増加が、ラットでは精巣ライディッヒ細胞腫の増加がいずれもわずかに認められた。甲

状腺の変化については、メカニズム検討試験の結果から薬物代謝酵素の誘導による下垂体 TSH の分泌亢進を介したげっ歯類特有のメカニズムによるものと推察され [25,26,27,28]、セレキシパグで約 170 倍、MRE-269 で約 54 倍の広い安全域が存在することも確認された（表 2.6.6.9.4.1-1 参照）。ライディッヒ細胞の変化については、ヒトとラットのライディッヒ細胞には生理学的差異が存在すること [29,30,31]、セレキシパグ及び MRE-269 は遺伝毒性作用を持たないこと並びにセレキシパグで約 19 倍、MRE-269 で約 92 倍の広い安全域があることから（表 2.6.6.9.4.2-1 参照）、本変化はヒトへの外挿性に乏しい変化と考えられた。非腫瘍性変化としては、マウス、ラットとも各種加齢性変化の増強が認められた。また、ラットでは眼科学的検査において網膜の小動脈の拡張及び蛇行が認められたが、関連する病理学的な変化は観察されず、ヒトで重篤な障害を示唆するものとは考えられなかった。

生殖発生毒性試験では、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において生殖能及び胚・胎児に対して影響を示さず、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験でも、胚胎児致死や催奇形性を示す所見はみられなかった。またラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験においても、母動物の生殖能及び出生児に対する影響が認められなかった。幼若イヌを用いた 39 週間反復投与試験では、体重増加の抑制に伴う性成熟の遅延及び骨端成長版の閉鎖遅延が認められたが、幼若動物に特異的な新たな毒性標的器官は見いだされなかった。

局所刺激性に関しては、ウサギを用いた局所刺激性試験において陰性であった。

光毒性に関しては、マウス線維芽細胞（Balb/c 3T3）を用いた *in vitro* 光毒性試験において、セレキシパグ及び MRE-269 は光毒性を示した。一方、セレキシパグの臨床試験において光毒性を示唆する変化は認められず、ヒトにおける光毒性の懸念は低いものと考えられた。

不純物の遺伝毒性に関しては、細菌を用いる復帰突然変異試験において陰性であった。

以上の成績からセレキシパグの毒性プロファイルは明らかとなり、ヒトにおいて重篤な副作用が発現する可能性は低いものと考えられた。

2.4.5 総括及び結論

セレキシパグを経口投与したとき、ラットでは肝臓だけでなく血中にも CES1 が存在し、吸収後の血中で速やかに MRE-269 への代謝が始まるため、生体内ではセレキシパグより MRE-269 が主に存在する。それに対し、ヒトでは血中に CES1 がなく、肝臓の CES1 により MRE-269 に代謝されるため、ヒトの方が MRE-269 の血中濃度の上昇は穏やかである。その分、血中にセレキシパグとして存在する量も多くなり、ヒトに経口投与したときのセレキシパグの C_{max} は MRE-269 に近い値を示した。ただし、MRE-269 の方が長く血中に存在しているので、セレキシパグの曝露量としては MRE-269 の 0.2 倍程度であった。

セレキシパグ及び MRE-269 は IP 受容体作動薬であり、アゴニスト作用の最大反応は両者の間に大きな違いはなかったが、効力はセレキシパグより MRE-269 の方が高かった。さらに、セレキシパグ及び MRE-269 のいずれもラット IP 受容体よりヒト IP 受容体に対して、より低濃度から作用した。ヒト IP 受容体を用いた *in vitro* における検討での MRE-269 の作用濃度域とヒトの用法・用量範囲で推定される血漿中濃度域は同程度であった。したがって、セレキシパグをヒトに経口投与したときの薬効発現の主体は MRE-269 によりもたらされると考えられた。なお、ヒトにおいてもセレキシパグの寄与は低いものの、ラットよりは関与する割合は高いと推察された。

セレキシパグの毒性評価のために、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、局所刺激性試験、毒性発現機序に関する試験及び光毒性試験（*in vitro* 光毒性試験）を実施した。また、代謝物及び不純物に関する試験を実施した。毒性試験で認められた変化はセレキシパグの薬理作用とそれに付随した変化、実験動物に特異的な変化、あるいは広い安全域を有する変化であり、セレキシパグがヒトにおいて重篤な副作用を誘発する可能性は低いと考えられた。

以上、非臨床試験成績から安全性に関してセレキシパグ及び MRE-269 に特異的な事象は見いだされておらず、プロスタノイド構造の IP 受容体作動薬での既知事象に注意することで、ヒトへの使用は可能と考えられた。さらに薬理及び薬物動態から、セレキシパグの長期間の投与によっても薬効の持続が可能と考えられ、非プロスタノイドの IP 受容体作動薬であるセレキシパグが肺動脈性肺高血圧症治療薬の新たな選択肢になることが期待される。

2.4.6 参考文献一覧

1. Frumkin LR. The Pharmacological treatment of pulmonary arterial hypertension. Pharmacol Rev. 2012;64:583-620. ＜資料番号 4.3-1＞

2. Majed BH, Khalil RA. Molecular mechanisms regulating the vascular prostacyclin pathways and their adaptation during pregnancy and in the newborn. Pharmacol Rev. 2012;64:540-82. ＜資料番号 4.3-2＞

3. Kuwano K, Hashino A, Asaki T, Hamamoto T, Yamada T, Okubo K, et al. 2-{4-[(5,6-Diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl)amino]butoxy}-N-(methylsulfonyl)acetamide (NS-304), an orally available and long-acting prostacyclin receptor agonist prodrug. J Pharmacol Exp Ther. 2007;322:1181-8. ＜資料番号 4.3-3＞

4. Katsuyama M, Sugimoto Y, Namba T, Irie A, Negishi M, Narumiya S, et al. Cloning and expression of a cDNA for the human prostacyclin receptor. FEBS Lett. 1994;344:74-8. ＜資料番号 4.3-4＞

5. Sasaki Y, Usui T, Tanaka I, Nakagawa O, Sando T, Takahashi T, et al. Cloning and expression of a cDNA for rat prostacyclin receptor. Biochim Biophys Acta. 1994;1224:601-5. ＜資料番号 4.3-5＞

6. Wilson RJ, Giles H. Piglet saphenous vein contains multiple relaxatory prostanoid receptors: evidence for EP_4, EP_2, DP and IP receptor subtypes. Br J Pharmacol. 2005;144:405-15. ＜資料番号 4.3-6＞

7. Orie NN, Clapp LH. Role of prostanoid IP and EP receptors in mediating vasorelaxant responses to PGI_2 analogues in rat tail artery: Evidence for $G_{i/o}$ modulation via EP_3 receptors. Eur J Pharmacol. 2011;654:258-65. ＜資料番号 4.3-7＞

8. Fujio H, Nakamura K, Matsubara H, Fukushima Kusano K, Miyaji K, Nagase S, et al. Carvedilol inhibits proliferation of cultured pulmonary artery smooth muscle cells of patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. J Cardiovasc Pharmacol. 2006;47:250-5. ＜資料番号 4.3-8＞

9. Magnani B, Galie N. Prostacyclin in primary pulmonary hypertension. Eur Heart J. 1996;17:18-24. ＜資料番号 4.3-9＞

10. Lannan KL, Phipps RP, White RJ. Thrombosis, platelets, microparticles and PAH: more than a clot. Drug Discovery Today. 2014;19:1230-5. ＜資料番号 4.3-10＞

11. Olsson KM, Delcroix M, Ghofrani HA, Tiede H, Huscher D, Speich R, et al. Anticoagulation and survival in pulmonary arterial hypertension: Results from the comparative, prospective registry of newly initiated therapies for pulmonary hypertension (COMPERA). Circulation. 2014;129:57-65. ＜資料番号 4.3-11＞

12. Gomez-Arroyo JG, Farkas L, Alhussaini AA, Farkas D, Kraskauskas D, Voelkel NF, et al. The monocrotaline model of pulmonary hypertension in perspective. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2012;302:L363-9. ＜資料番号 4.3-12＞

13. Pankey EA, Bhartiya M, Badejo Jr AM, Haider U, Stasch JP, Murthy SN, et al. Pulmonary and systemic vasodilator responses to the soluble guanylyl cyclase activator, BAY 60–2770, are not dependent on endogenous nitric oxide or reduced heme. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2011;300:H792-802. ＜資料番号 4.3-13＞

14. Fetalvero KM, Martin KA, Hwa J. Cardioprotective prostacyclin signaling in vascular smooth muscle. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2007;82:109-18. ＜資料番号 4.3-14＞

15. Norel X. Prostanoid receptors in the human vascular wall. ScientificWorldJournal. 2007;7:1359-74. ＜資料番号 4.3-15＞

16. 渡邉裕司. ターニングポイントを迎えた肺高血圧症の薬物治療. 日薬理誌. 2014;143:165-72. ＜資料番号 4.3-16＞

17. Ruwart MJ, Rush BD. Prostacyclin inhibits gastric emptying and small-intestinal transit in rats and dogs. Gastroenterology. 1984;87:392-5. ＜資料番号 4.3-17＞

18. Brown CC, Baker DC, Barker IK. Intestine. In: Maxie MG, editor. Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals. 5th ed.Vol. 2. Edinburgh: Elsevier; 2007. p. 69-128. ＜資料番号 4.3-18＞

19. 市野正美, 鈴木溥司, 柴主敏行, 小島利治, 中村俊之, 工藤南雄, 他. Beraprost Sodium のイヌにおける 12 カ月間経口投与慢性毒性試験. 基礎と臨床. 1989;23:3561-94. ＜資料番号 4.3-19＞

20. Wöhrmann T, Kögel BY, Schneider J, Matthiesen T. The beagle dog as a predictor of gastrointestinal findings in humans caused by the prostacyclin analogue taprostene. Exp Toxicol Pathol. 1994;46:71-3. ＜資料番号 4.3-20＞

21. U.S.Food and Drug Administration [Homepage on Internet]. Pharmacology Review(s). Ventavis, NDA21779. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 2001. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2004/21-779_Ventavis_pharmr.pdf ＜資料番号 4.3-21＞

22. Azar T, Berger DL. Adult intussusception. Ann Surg. 1997;226:134-8. ＜資料番号 4.3-22＞

23. Duijff JW, Borger van der Burg BLS, Aarts NJM, Loyson SA, Guicherit OR. Intussusception in adults: report of four cases and review of the literature. Case Rep Gastroenterol. 2007;1:59-64. ＜資料番号 4.3-23＞

24. McGoon MD, Kane GC. Pulmonary hypertension: diagnosis and management. Mayo Clin Proc. 2009;84:191-207. ＜資料番号 4.3-24＞

25. Capen CC. Hormonal imbalances and mechanisms of chemical injury of thyroid gland. In: Jones TC, Capen CC, Mohr U, editors. Monographs on pathology of laboratory animals: endocrine system. 2nd ed. Berlin: Springer; 1996. p. 217-38. ＜資料番号 4.3-25＞

26. Cohen SM, Arnold LL. Chemical carcinogenesis. Toxicol Sci. 2011;120:S76-92. ＜資料番号 4.3-26＞

27. Greaves P. Endocrine glands. In: Greaves P, editor. Histopathology of preclinical toxicity studies. 4th ed. London: Academic Press; 2012. p. 725-97. ＜資料番号 4.3-27＞

28. Rosol TJ, DeLellis RA, Harvey PW, Sutcliffe C. Endocrine System. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA, Bolon B, Ochoa R, editors. Haschek and Rousseaux's handbook of toxicologic pathology: 3rd ed. Vol. 3. London: Academic Press; 2013. p. 2391-492. ＜資料番号 4.3-28＞

29. Prentice DE, Meikle AW. A review of drug-induced Leydig cell hyperplasia and neoplasia in the rat and some comparisons with man. Hum Exp Toxicol. 1995; 14:562-72. ＜資料番号 4.3-29＞

30. Cook JC, Klinefelter GR, Hardisty JF, Sharpe RM, Foster PMD. Rodent Leydig cell tumorigenesis: a review of the physiology, pathology, mechanisms, and relevance to humans. Crit Rev Toxicol. 1999;29:169-261. ＜資料番号 4.3-30＞

31. Vidal JD, Mirsky ML, Colman K, Whitney KM, Creasy DM. Reproductive system and mammary gland. In: Sahota PS, Popp JA, Hardisty JF, Goponath C, editors. Toxicologic pathology: nonclinical safety assessment. Boca Raton: CRC Press; 2013. p. 717-830. ＜資料番号 4.3-31＞